# 不同菜豆品种 4 种抗营养因子水平差异分析

尚 蕊,吴 华,郭 瑞,刘 琴,潘 磊,李佳楠,胡志辉,陈禅友\* (江汉大学生命科学学院,湖北省豆类 (蔬菜)植物工程技术研究中心,武汉 430056)

摘 要:菜豆中植物凝集素、皂苷、胰蛋白酶抑制剂和植酸等抗营养因子是引起菜豆食物中毒的内源物。以 56 份食荚菜豆品种为材料,测定了鲜荚中 4 种抗营养因子含量或活性。结果表明,供试菜豆品种群体 4 种抗营养因子水平均存在极显著差异。植物凝集素含量(均值为 1.743 mg·g<sup>-1</sup>)和胰蛋白酶抑制剂活性(均值为 1.680 mg·g<sup>-1</sup>)变异系数均在 100%以上,品种频率分布曲线主峰明显,但在极高和极低区域均有品种间断分布,出现了品种水平的数量等级差异;皂苷含量(均值为 3.730 mg·g<sup>-1</sup>)和植酸含量(均值为 3.102 mg·g<sup>-1</sup>)变异系数均低于 41%,品种频率分布曲线呈近正态分布,主峰明显,双尾有低频率连续分布。相关分析表明,植物凝集素含量与胰蛋白酶抑制剂活性呈极显著正相关。聚类分析将供试56 份菜豆品种划分为 3 个品种群,近 80%品种聚于抗营养因子中等水平品种群,近 12%品种居于较低水平。由于菜豆植物凝集素是食用致毒性的主要内源物,同时其和胰蛋白酶抑制剂等均与菜豆田间抗病虫性密切相关,预示着筛选出极低水平植物凝集素的菜豆品种是可行的,但同时可能会降低其田间抗病虫性密切相关,预示着筛选出极低水平植物凝集素的菜豆品种是可行的,但同时可能会降低其田间抗病虫性密切相关,预示着筛选出极低水平植物凝集素的菜豆品种是可行的,但同时可能会降低其田间抗病虫性

关键词:菜豆;植物凝集素;皂苷;胰蛋白酶抑制剂;植酸;遗传变异

**中图分类号:** S 643.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 11-2163-11

# The Diversity of Four Anti-nutritional Factors in Kidney Bean

SHANG Rui, WU Hua, GUO Rui, LIU Qin, PAN Lei, LI Jia-nan, HU Zhi-hui, and CHEN Chan-you\*

(School of Life Sciences, Jianghan University, Hubei Province Engineering Research Center for Legume Plants, Wuhan 430056, China)

**Abstract:** Anti-nutritional factors such as lectins, saponin, trypsin inhibitor and phytic acid are endogenous substances in kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). In this study, the contents or activities of these four anti-nutritional factors in fresh pods were detected in 56 selected cultivars. The results revealed significant difference of each factor in the tested cultivar population. The mean value of lectin content and the activity of trypsin inhibitor was 1.743 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup> and 1.680 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup> respectively. Their coefficients of variation (*CV*) were both more than 100% and each of the cultivar frequency distribution curve showed a main peak, but the discontinuous distributions in the extremely high and low areas indicate hierarchic cultivars. However, the content of saponin (mean value 3.730 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>) and phytic acid (mean value 3.102 mg  $\cdot$  g<sup>-1</sup>) were with *CV* less than 41%. Each showed a main peak in its normal distribution curve and low frequency continuous distribution in dual tails. Meanwhile, statistic analysis demonstrated a positive

**收稿日期:** 2015 - 07 - 06; **修回日期:** 2015 - 10 - 22

基金项目: 农业部 '948' 项目 (2011-G1-17); 湖北省科技平台项目 (鄂科技通[2011]第 101 号); 武汉市科技攻关项目 (201250499145-11)

<sup>\*</sup> 通信作者 Author for correspondence (E-mail: ccy@jhun.edu.cn)

correlation between the lectin content and trypsin inhibitor activity in fresh pods. Furthermore, all tested 56 cultivars clustered into three groups based on their level of four anti-nutritional factors, 80% of them into medium level group, 12% of them into low level group. The endogenous edible toxic compounds, such as lectin and trypsin inhibitor, are closely related to the insect resistance in field. This study suggested that it is possible to screen the cultivars contain less lectin and other factors but with reduced the pest resistance in field.

**Key words:** kidney bean; *Phaseolus vulgaris*; lectin; saponin; trypsin inhibitor; phytic acid; genetic variation

菜豆(Phaseolus vulgaris L.)分为食荚菜豆和粮用普通菜豆。食荚菜豆营养丰富,低脂肪高蛋白,并富含矿物质以及多种维生素,是世界性重要作物。由于菜豆中存在一些内源致毒物质,尽管烹饪过程中的高温可以使毒物失活,但食用中毒事件仍有发生(张昕等,2010)。其毒物导致人体四肢麻木,烧灼型胃疼,头痛、胸闷等神经系统症状,严重者昏迷,甚至造成心肾肝多脏器损害或猝死(李明等,1998)。

研究表明,菜豆中含有植酸(O'Deli & Savage, 1960)、植物凝集素(Weder et al., 1997; Vasconcelos & Oliveira, 2004)、胰蛋白酶抑制剂(Angela & Domenico, 2003)和皂苷(姚云艳等, 2006)等特殊化学成分,它们属于抗营养因子(或称败质因子),是菜豆内源毒性的主要物质基础,但对其水平状态及其种质间遗传变异报道较少,仅有对几个品种的少量指标的分析(娄在祥和王洪新, 2008;李笑梅和张娜, 2009),需要深入探究菜豆种质去毒的科技途径,以有效根除食用菜豆可能中毒这一食物安全隐患。

本研究中选取具代表性的 56 个菜豆品种为材料,通过测定其商品成熟荚中植物凝集素、皂苷、胰蛋白酶抑制剂和植酸的含量或活性,分析菜豆群体抗营养因子的水平分布及其遗传变异和相关性,旨在为筛选低毒或无毒菜豆品种提供依据,进而开发出没有食用安全隐患的菜豆品种,促进菜豆产业发展和食用安全。

# 1 材料与方法

#### 1.1 植物材料

分别于 2012 年和 2013 年春季在江汉大学湖北省豆类(蔬菜)植物工程技术研究中心试验大田(位于湖北省武汉市蔡甸区永安镇, E113°47′, N30°30′)开展了菜豆品种资源比较试验,共计 56个食荚品种(其编号、名称、来源地和特性分别列于表 1)参试。

## 1.2 取样制样

试验采用随机区组设计,重复 3 次。每个小区 10 m×1.6 m,株行距 0.25 m×0.85 m,小区面积为 16 m²。试验场地土壤肥力均匀一致,每年 3 月 23 日地膜覆盖播种,栽培管理按照当地常规技术进行。观察农艺性状,5 月 1 日后观察开花结荚情况。选取开花后 15 d 的鲜荚作为试验材料,从每个品种每个试验小区随机选取若干豆荚作为 1 份样品,共计 168 份样品,供测试其植物凝集素含量、总皂苷含量、胰蛋白酶抑制剂活性和植酸含量。

#### 表 1 56 个菜豆品种来源及主要性状特征

Table 1 Source and main characteristic of 56 cultivars of kidney bean

	Table 1	Source and main characteristic of	oo cuit	ivals of kidney bean	
来源地	编号	名称    主要性状特征			
Source	Accession	Name		cteristic	
天津,蓟县 Jixian,Tianjin	1	新双青王四季豆 Vindous Rosin Survey & Videous Rose	早熟,	蔓生,绿荚 Early maturity,trailing,green pod	
广西 古台 Namina Cuanavi	2	Xinshuangqingwang Kidney Bean	山油	节件 经某Madium maturity trailing array and	
广西,南宁 Nanning,Guangxi		白籽四季豆 Baizi Kidney Bean		蔓生,绿荚 Medium maturity, trailing, green pod	
辽宁, 辽阳 Liaoyang, Liaoning		春秋大紫袍 Chunqiu Dazipao		蔓生,紫荚 Medium maturity,trailing,purple pod	
) - II	4	97-5 架豆王 97-5 Jiadouwang		蔓生,绿荚 Early maturity,trailing,green pod	
河北,辛集 Xinji,Hebei	5	金龙王 Jinlongwang		蔓生,绿荚 Early maturity,trailing,green pod	
河北,石家庄 Shijiazhuang,	6	抗热架豆 Kangre Jiadou	早熟,	蔓生,白荚 Early maturity,trailing,white pod	
Hebei	7	佐井田孝豆 Handley William Danie	山油	草件 - 沙/	
湖北,武汉 Wuhan,Hubei	7	·		蔓生,浅绿荚 Medium maturity, trailing, light green pod	
河北,阳原 Yangyuan,Hebei		自不老 Baibulao		蔓生,白荚 Early maturity,trailing,white pod	
湖北,武汉 Wuhan,Hubei	9	九粒白 Jiulibai		蔓生,白荚 Early maturity,trailing,white pod	
, ,	10	经典白丰王 Jingdian Baifengwang		蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod	
河北,辛集 Xinji,Hebei	11	金束鹿 97-5 Jinshulu 97-5		蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod	
辽宁, 辽阳 Liaoyang, Liaoning		精选 97-5 Jingxuan 97-5		蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod	
辽宁,锦州 Jinzhou,Liaoning		绿宁自芸 Lüningbaiyun		蔓生,白荚 Early maturity,trailing,white pod	
湖北,武汉 Wuhan,Hubei	14	泰国架豆王1号	早熟,	蔓生,绿荚 Early maturity,trailing,green pod	
スタ 24個 a I : :	1.5	Thailand Jiangdouwang 1	나 함	黄体 -	
辽宁, 沈阳 Shenyang, Liaoning		九粒红 Jiulihong		蔓生,紫荚 Medium maturity, trailing, purple pod	
辽宁, 辽阳 Liaoyang, Liaoning		超级白大架 Chaoji Baidajia		蔓生,白荚 Medium maturity, trailing, white pod	
Ma II b b vvv i vv i v	17	特级十粒长 Teji Shilichang		蔓生,紫荚 Early maturity,trailing,purple pod	
湖北,武汉 Wuhan,Hubei	18	WS5		蔓生,浅绿荚 Medium maturity,trailing,light green pod	
	19	WS11		蔓生,浅绿荚 Medium maturity,trailing,light green pod	
	20	WS20		蔓生,白荚 Medium maturity,trailing,white pod	
	21	WS21		蔓生,浅绿荚 Medium maturity,trailing,light green pod	
	22	WS22		蔓生,浅绿荚 Medium maturity,trailing,light green pod	
	23	WS23	中熟,	蔓生,白荚 Medium maturity, trailing, white pod	
	24	WS24	中熟,	3 2 1 1 1	
	25	WS25	中熟,	, ,	
	26	改良九粒白 Gailiang Jiulibai	中熟,	蔓生,白荚 Medium maturity,trailing,white pod	
	27	春秋无架四季豆	中熟,	矮生,绿荚 Medium maturity,erection,green pod	
		Chunqiu Wujia Kidney Bean			
	28	新选绿龙架豆	中熟,	蔓生,绿荚 Medium maturity,trailing,green pod	
		Xinxuan Lülong Jiadou	1 -341	terit take a si	
	29	•		矮生,白荚 Medium maturity, erection, white pod	
	30	泰国架豆王 2 号	中熟,	蔓生,绿荚 Medium maturity,trailing,green pod	
	21	Thailand Jiadouwang 2	山油	节件 结茎M . I	
*모···	31	架豆王 6 号 Jiadouwang 6	中熟,		
美国 America	32	Garden Bean Gold Rush		矮生,浅绿荚 Early maturity,erection,light green pod	
	33	Garden Bean Blue Lake 274		矮生,浅绿荚 Early maturity,erection,light green pod	
	34	Garden Bean Blue Lake Stringless		蔓生,绿荚 Late maturity,trailing,green pod	
	35	•		矮生,浅绿荚 Early maturity,erection,light green pod	
	36	Garden Bean Kenducky Wonder		蔓生, 绿荚 Late maturity, trailing, green pod	
	37	Bean State Half Runner		蔓生,绿荚 Early maturity, trailing, green pod	
	38	Bean White Rice		矮生,浅绿荚 Medium maturity,erection,light green pod	
	39	Bean Mayflower		蔓生,浅绿荚 Late maturity,trailing,light green pod	
	40	Bean Saint Esprit A Oeil Rouge		矮生,浅绿荚 Medium maturity,erection,light green pod	
	41	Bean Contende		矮生,浅绿荚 Medium maturity,erection,light green pod	
	42	Bean Royalty Purple Pods	中熟,	矮生,紫荚 Medium maturity,erection,purple pod	
英国 England	43	Cobra	中熟,	矮生,浅绿荚 Medium maturity,erection,light green pod	
美国 America	44	Cobra	中熟,	矮生,浅绿荚 Medium maturity,erection,light green pod	
湖北,武汉 Wuhan,Hubei	45	97-5 架豆 97-5 Jiadou	晚熟,	蔓生,绿荚 Late maturity,trailing,green pod	
辽宁, 沈阳 Shenyang, Liaoning	46	923	晚熟,	蔓生,浅绿荚 Late maturity,trailing,light green pod	

续表1					
来源地	编号	名称	主要性状特征		
Source	Accession	Name	Characteristic		
辽宁, 沈阳 Shenyang, Liaoning	; 47	大紫袍 Dazipao	中熟,蔓生,绿荚 Medium maturity,trailing,green pod		
	48	白籽四季豆 Baizi Kidney Bean	早熟,蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod		
	49	红花四季豆 Honghua Kidney Bean	早熟,蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod		
	50	紫架豆王 Zijiadouwang	早熟,蔓生,紫荚 Early maturity,trailing,purple pod		
	51	紫玉 Ziyu	早熟,蔓生,紫荚 Early maturity,trailing,purple pod		
	52	芸豆 Yundou	早熟,蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod		
云南,昆明 Kunming,Yunnar	53	强丰 15 号 Qiangfeng 15	中熟,蔓生,浅绿荚 Medium maturity,trailing,light green pod		
	54	泰国架豆王3号	晚熟,蔓生,浅绿荚 Late maturity,trailing,light green pod		
		Thailand Jiadouwang 3			
	55	泰国无筋豆 Thailand Wujindou	晚熟,蔓生,浅绿荚 Late maturity,trailing,light green pod		
	56	红花四季豆 Honghua Kidney Bean	早熟,蔓生,浅绿荚 Early maturity,trailing,light green pod		

### 1.3 检测方法

### 1.3.1 植物凝集素含量测定

取兔静脉血,配制成红细胞  $2 \times 10^8 \cdot \text{mL}^{-1}$  的悬液; 取  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$  的凝集素溶液(PHA 溶液),经倍比稀释成 8 个浓度梯度作为标准溶液,用酶标法测定其对兔红细胞的凝集效应,绘制凝集标准曲线。分别将每份菜豆鲜荚打碎成浆,称取匀浆 10 g,加入磷酸盐缓冲液(PBS 溶液, $0.075 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,pH 7.2)定容至 10 mL,4 °C摇床振荡浸提 24 h, $8 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min。取上清液作为待测样液。每份菜豆鲜荚样品分别提取 3 次,酶标法测定其吸光值,代入标准曲线计算植物凝集素含量。1.3.2 总皂苷含量测定

菜豆鲜荚浆液用 70%乙醇提取 4 h,过滤后蒸干乙醇,按 1:3 的比例加入纯水和水饱和正丁醇,摇床振荡 15 min,静置萃取 2 h,上层溶液即为待测样液。每份菜豆样品分别提取 3 次。取 40  $\mu$ L 水饱和正丁醇上清液移入酶标板微孔中,蒸干正丁醇,加入 20  $\mu$ L 5%香草醛—冰乙酸,80  $\mu$ L 高氯酸,60  $\mathbb C$  水浴 15 min,冰浴 5 min,加入 200  $\mu$ L 冰乙酸。酶标仪分别测定 530 nm、560 nm 和 590 nm 波长处吸光度值,得出  $A = OD_{560} - 1/2$   $(OD_{530} + OD_{590})$ 。以齐墩果酸为标准品(娄在祥和王洪新,2008;李笑梅和张娜,2009),经上述相同步骤处理测得数据绘制标准曲线。

#### 1.3.3 胰蛋白酶抑制剂活性测定

称取 3 g 菜豆鲜荚匀浆,加入 50 mL 蒸馏水,室温搅拌提取 30 min,离心 10 min,取上清液加入截留率为 50 kD 的超滤管进行超滤,超滤过膜液为样品溶液。每份菜豆鲜荚样品分别提取 3 次。将 27.0 mg 胰蛋白酶溶于氯化钙盐溶液中,定容至 100 mL,作为储备液;在空白管中加入 3 mL 蒸馏水,标准管中加入 5 mL 苯甲酸 - L - 精氨酸 - 对硝基苯胺(L-BAPA)溶液,置于 37 ℃水浴中 10 min,分别加入 1 mL 胰蛋白酶储备液,空白管中加入 2 mL 浓度为 5.3 mol·L¹的乙酸溶液,两管于 8 000 r·min¹离心 10 min。以水作参比调零,410 nm 波长下测定上清液吸光度。其中标准管测定值和空白标准管测定值的差异(Ar - Abr)应在 0.380 ± 0.050 范围内;样品测定包含样品管和样品空白对照管,两管中将上述胰蛋白酶活性检验加入的水溶液换成样品溶液即可,其他处理步骤相同。

样品提取液的抑制百分率 i (%) = [(Ar - Abr) - (As - Abs)]/(Ar - Abr) 100。式中 Ar 为标准溶液的吸光度; Abr 为空白标准吸光度; As 为样品溶液的吸光度; Abs 为样品空白吸光度。

胰蛋白酶抑制剂活性(TIA)以每克样品抑制胰蛋白酶毫克数表示。TIA( $mg \cdot g^{-1}$ )= ( $AI \times V \times D$ ) / (0.019 × m × 1 000)。式中 AI = (Ar – Abr) – (As – Abs),为吸光度变化值;V 是样品提取液体积(mL);m 是测试样品的质量(g);0.019 是 1  $\mu g$  胰蛋白酶在 410 nm 波长的吸光度;D 是样品的稀释倍数。

#### 1.3.4 植酸含量测定

取 1.5 g 菜豆鲜荚匀浆,加入 25 mL 100 g · L · 1 硫酸钠—盐酸,25 ° C 振荡提取 2 h,8 000 r · min · 离心 10 min,取上清为样品液。每份菜豆鲜荚样品分别提取 3 次。取 15 mL 样品粗提液,加入 1 mL 30 g · L · NaOH,加水定容至 30 mL,混匀后上离子交换柱,流速 1 mL · min · 1,上样完毕后,以 0.7 mol · L · NaCl 溶液洗脱交换柱,收集洗脱液定容于 25 mL 试管中备用。配制浓度为 1.4 mg · mL · 的植酸钠溶液,制备 8 个浓度梯度的标准液;待测溶液加入 2.5 mL 三氯化铁—磺基水杨酸反应液(15 g 磺基水杨酸、1.5 g FeCl 3 ,蒸馏水溶解并定容至 500 mL,作为储备液,使用前稀释 10 倍)和 2.5 mL 水,混匀,3 000 r · min · 1 离心 10 min。放置 20 min,500 nm 测定吸光度。

#### 1.4 数据统计分析方法

数据整理均通过 Excel 中数据分析软件完成。方差分析、相关分析及聚类分析均通过 DPS 7.05 软件完成。方差分析时,采用完全随机设计,逐个对单因素进行 Duncan's 新复极差法分析。对 4 种 抗营养因子两两间分别作直线相关分析。对 4 项指标的数值分别作标准化处理(无量纲化,使其具可比行),依据品种和 4 项指标标准化数值建立数据矩阵(共 56 行,4 列),通过 DPS 软件,采用 欧氏距离之离差平方和法进行聚类,得到品种聚类分析图。

## 2 结果与分析

#### 2.1 菜豆 4 种抗营养因子水平测定结果与分析

2012 年和 2013 年供试的 56 个菜豆品种间 4 种抗营养因子高低水平基本一致,2013 年春季试验测定结果列于表 2。方差分析表明,菜豆品种群体的 4 种抗营养因子水平差异均极显著,表现出明显的种质特异性和遗传多样性。

植物凝集素含量在菜豆品种间变异明显,其均值为  $1.743~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,变异系数达到 108.898%(表 2)。含量最高( $10.850~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )的是引自美国的 40~号品种,最低( $0.025~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )的为湖北武汉的 97-5~架豆(45~号)。基于植物凝集素含量水平的菜豆品种频率分布曲线总体呈现出非连续性(图 1,A),但是主峰非常明显,即绝大多数品种(48~h,占 85.71%)分布在均值左右(0.5~l 2~l  $2~\text{$ 

56 个菜豆品种群体皂苷含量水平变幅( $0.966\sim7.856~mg\cdot g^{-1}$ )较大,均值为  $3.730~mg\cdot g^{-1}$ (表 2)。基于皂苷水平的菜豆品种频率分布曲线呈现出连续性(图 1,B),主峰较明显,80.35%的品种分布在  $2\sim5~mg\cdot g^{-1}$ 区域,有 10 个品种分布在高水平区域,1 个品种含量极低。

菜豆品种间胰蛋白酶抑制剂活性变异极明显,均值为  $1.680~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ,变幅为  $0.016\sim15.947~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ (表 2)。基于其活性水平的菜豆品种频率分布曲线总体呈现出非连续性(图 1,C),但是主峰明显,48 个菜豆品种(占总数的 85.71%)在  $0.1\sim4.0~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 区域连续分布,有 4 个品种在高活性( $4.0~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上)分布区域间断分布,也有 4 个品种分布在极低活性( $0.1~\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 以下)区域。因而,菜豆品种依胰蛋白酶抑制剂活性水平至少可以分为 6 个数量等级。

#### 表 2 供试菜豆品种抗营养因子含量/活性测定结果

Table 2 The results of anti-nutritional factors level of common bean cultivars tested in this study

编号	植物凝集素含量	皂苷含量	胰蛋白酶抑制剂活性	植酸含量
Accession	Content of lectin	Content of saponin	Activity of trypsin inhibitor	Content of phytic acid
1	$1.462 \pm 0.009$	$2.623 \pm 0.017$	$2.522 \pm 0.027$	$3.215 \pm 0.005$
2	$1.439 \pm 0.001$	$3.144 \pm 0.029$	$0.709 \pm 0.005$	$2.915 \pm 0.007$
3	$1.706 \pm 0.022$	$3.629 \pm 0.029$	$0.454 \pm 0.007$	$3.067 \pm 0.005$
4	$0.595 \pm 0.011$	$7.449 \pm 0.049$	$1.009 \pm 0.002$	$2.949 \pm 0.013$
5	$1.463 \pm 0.009$	$4.241 \pm 0.028$	$0.103 \pm 0.001$	$2.797 \pm 0.012$
6	$4.361 \pm 0.004$	$3.697 \pm 0.113$	$0.745 \pm 0.001$	$2.789 \pm 0.010$
7	$1.162 \pm 0.015$	$3.023 \pm 0.012$	$1.092 \pm 0.002$	$3.115 \pm 0.020$
8	$0.690 \pm 0.066$	$3.471 \pm 0.065$	$1.863 \pm 0.006$	$3.364 \pm 0.014$
9	$1.096 \pm 0.036$	$5.836 \pm 0.047$	$0.016 \pm 0.001$	$2.941 \pm 0.007$
10	$0.912 \pm 0.027$	$3.367 \pm 0.043$	$0.792 \pm 0.028$	$2.918 \pm 0.016$
11	$0.736 \pm 0.012$	$4.159 \pm 0.086$	$0.463 \pm 0.001$	$3.007 \pm 0.019$
12	$1.637 \pm 0.017$	$6.105 \pm 0.100$	$0.818 \pm 0.001$	$2.952 \pm 0.015$
13	$1.318 \pm 0.031$	$4.448 \pm 0.031$	$0.195 \pm 0.004$	$2.971 \pm 0.020$
14	$1.375 \pm 0.009$	$3.792 \pm 0.024$	$0.055 \pm 0.001$	$3.012 \pm 0.007$
15	$1.460 \pm 0.013$	$4.129 \pm 0.063$	$4.296 \pm 0.051$	$3.714 \pm 0.028$
16	$1.510 \pm 0.021$	$5.231 \pm 0.089$	$0.020 \pm 0.00 \ 1$	$3.039 \pm 0.018$
17	$1.357 \pm 0.041$	$3.948 \pm 0.018$	$1.031 \pm 0.009$	$3.157 \pm 0.014$
18	$1.318 \pm 0.050$	$2.810 \pm 0.018$	$2.895 \pm 0.011$	$3.640 \pm 0.002$
19	$1.280 \pm 0.036$	$4.057 \pm 0.087$	$0.416 \pm 0.017$	$3.023 \pm 0.034$
20	$1.653 \pm 0.033$	$7.856 \pm 0.068$	$0.381 \pm 0.002$	$3.105 \pm 0.003$
21	$1.461 \pm 0.006$	$4.153 \pm 0.069$	$0.355 \pm 0.013$	$2.821 \pm 0.014$
22	$1.770 \pm 0.030$	$3.216 \pm 0.022$	$0.621 \pm 0.005$	$2.876 \pm 0.007$
23	$1.260 \pm 0.003$	$4.913 \pm 0.059$	$0.030 \pm 0.003$	$2.918 \pm 0.008$
24	$1.166 \pm 0.013$	$4.041 \pm 0.022$	$1.849 \pm 0.012$	$2.301 \pm 0.071$
25	$1.329 \pm 0.002$	$3.309 \pm 0.058$	$1.025 \pm 0.007$	$2.065 \pm 0.018$
26	$0.515 \pm 0.010$	$3.942 \pm 0.069$	$2.088 \pm 0.004$	$2.690 \pm 0.015$
27	$1.338 \pm 0.010$	$2.381 \pm 0.042$	$0.783 \pm 0.013$	$2.701 \pm 0.007$
28	$0.921 \pm 0.071$	$6.113 \pm 0.085$	$2.294 \pm 0.004$	$2.913 \pm 0.011$
29	$1.454 \pm 0.007$	$5.239 \pm 0.096$	$2.145 \pm 0.020$	$3.659 \pm 0.030$
30	$1.281 \pm 0.013$	$2.780 \pm 0.055$	$0.199 \pm 0.005$	$2.866 \pm 0.020$
31	$1.279 \pm 0.035$	$3.856 \pm 0.105$	$0.724 \pm 0.003$	$2.869 \pm 0.004$
32	$1.460 \pm 0.020$	$2.293 \pm 0.015$	$1.807 \pm 0.012$	$3.091 \pm 0.010$
33	$4.999 \pm 0.003$	$0.966 \pm 0.037$	$0.646 \pm 0.001$	$2.999 \pm 0.005$
34	$1.653 \pm 0.019$	$2.334 \pm 0.016$	$0.591 \pm 0.003$	$2.800 \pm 0.020$
35	$1.707 \pm 0.034$	$2.028 \pm 0.024$	$0.689 \pm 0.001$	$3.183 \pm 0.024$
36	$1.045 \pm 0.007$	$3.853 \pm 0.044$	$1.011 \pm 0.008$	$3.078 \pm 0.010$
37	$1.540 \pm 0.026$	$2.137 \pm 0.050$	$1.782 \pm 0.030$	$3.231 \pm 0.006$
38	$9.829 \pm 0.126$	$2.032 \pm 0.054$	$2.500 \pm 0.008$	$3.564 \pm 0.039$
39	$1.229 \pm 0.004$	$3.382 \pm 0.013$	$1.537 \pm 0.031$	$3.299 \pm 0.016$
10	$10.850 \pm 0.112$	$2.570 \pm 0.043$	$10.000 \pm 0.185$	$4.039 \pm 0.007$
11	$1.337 \pm 0.031$	$7.059 \pm 0.130$	$7.092 \pm 0.026$	$5.120 \pm 0.053$
12	$1.365 \pm 0.004$	$2.140 \pm 0.034$	$0.331 \pm 0.007$	$2.957 \pm 0.009$
13	$1.736 \pm 0.018$	$2.545 \pm 0.046$	$1.054 \pm 0.007$	$2.918 \pm 0.015$
14	$4.392 \pm 0.008$	$6.965 \pm 0.032$	$15.947 \pm 0.164$	$4.986 \pm 0.015$
15	$0.025 \pm 0.003$	$3.287 \pm 0.070$	$0.336 \pm 0.003$	$2.727 \pm 0.041$
16	$1.465 \pm 0.024$	$5.770 \pm 0.039$	$0.194 \pm 0.004$	$2.941 \pm 0.006$
17	$0.900 \pm 0.010$	$2.314 \pm 0.013$	$1.261 \pm 0.012$	$3.049 \pm 0.003$
18	$1.880 \pm 0.044$	$2.315 \pm 0.035$	$2.925 \pm 0.141$	$3.139 \pm 0.032$
19	$1.372 \pm 0.002$	$3.152 \pm 0.057$	$2.424 \pm 0.003$	$3.275 \pm 0.006$
50	$1.608 \pm 0.023$	$2.454 \pm 0.066$	$0.622 \pm 0.003$	$2.966 \pm 0.023$
51	$0.673 \pm 0.027$	$4.047 \pm 0.141$	$2.974 \pm 0.041$	$3.663 \pm 0.010$
52	$1.078 \pm 0.004$	$4.538 \pm 0.035$	$0.753 \pm 0.004$	$2.918 \pm 0.016$
53	$0.429 \pm 0.014$	$2.075 \pm 0.013$	$1.901 \pm 0.020$	$2.687 \pm 0.013$
54	$0.039 \pm 0.002$	$3.087 \pm 0.013$	$0.362 \pm 0.004$	$2.768 \pm 0.007$
55	$1.718 \pm 0.019$	$2.037 \pm 0.062$	$0.473 \pm 0.004$	$3.065 \pm 0.007$
56	$0.981 \pm 0.023$	$2.526 \pm 0.012$	$2.851 \pm 0.011$	$2.860 \pm 0.012$
极小值 Minimum	0.025	0.966	0.016	2.065
极大值 Maximum	10.850	7.856	15.947	5.120
均值 Average	1.743**	3.730**	1.680**	3.102**
变异系数/% CV	108.898	40.571	153.752	16.053

注:品种编号与表 1 中编号相一致。Note: The code of accession is the same to that listed in Table 1.

56 个菜豆品种鲜荚的植酸含量均值为  $3.102~mg\cdot g^{-1}$ ,变幅为  $2.065\sim 5.120~mg\cdot g^{-1}$ ,变异系数仅为 16.053%,明显低于上述 3 项指标的变异水平,但品种间具极显著差异(表 2)。基于植酸水平的菜豆品种频率分布曲线呈正态分布(图 1,D),主峰(低于均值 3.102)明显,85.71%的品种连续分布于  $2.7\sim 3.7~mg\cdot g^{-1}$ 区间,曲线双尾各有 7.15%的品种分布。

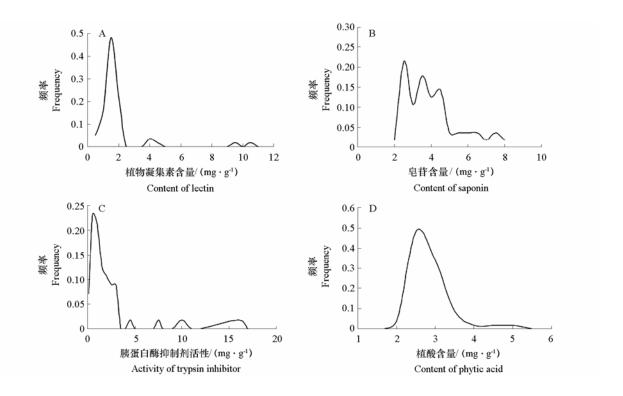


图 1 基于鲜荚中抗营养因子水平的菜豆品种频率分布图

Fig. 1 Frequency distribution of kidney bean cultivars based on the levels of four anti-nutritional factors

#### 2.2 抗营养因子相关分析结果

相关分析结果(表3)表明,植酸与胰蛋白酶抑制剂、植物凝集素与胰蛋白酶抑制剂、植物凝集素与植酸水平之间均呈极显著正相关,植酸和皂苷水平之间呈显著正相关,而皂苷与植物凝集素、皂苷与胰蛋白酶抑制剂水平之间相关性均不显著。

表 3 56 个菜豆品种中抗营养因子含量/活性间的直线相关分析结果

Table 3 Correlation analysis of anti-nutritional factors content/activity

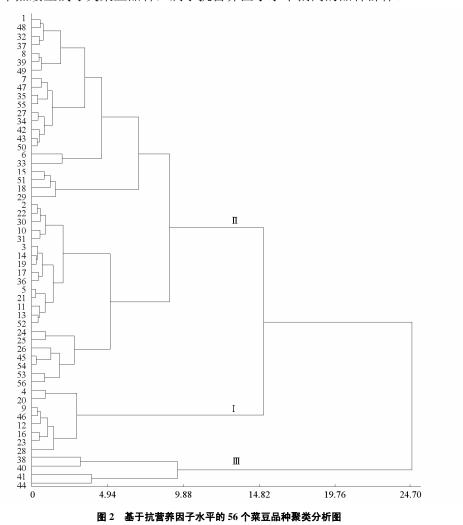
名称 Index	植物凝集素 Lectin	皂苷 Saponin	胰蛋白酶抑制剂 Trypsin inhibitor	植酸 Phytic acid
植物凝集素 Lectin	1			
皂苷 Saponin	0.179	1		
胰蛋白酶抑制剂 Trypsin inhibitor	0.466**	0.206	1	
植酸 Phytic acid	0.365**	$0.290^{*}$	0.789**	1

注: \*\*, 在P = 0.01 水平(双侧)上显著相关; \*, 在P = 0.05 水平(双侧)上显著相关。

Note: \*\* or \* demonstrates correlated extremely significantly and significantly between two indices.

### 2.3 基于 4 种抗营养因子水平的菜豆品种聚类分析

在对抗营养因子含量/活性数据进行标准化转换后进行了 56 个菜豆品种系统聚类分析,获得了品种聚类图 (图 2)。当欧氏距离为 10 时,基于 4 种抗营养因子水平的总体相似性大小,56 份菜豆品种可以划分为 3 个品种群。最先聚集在一起的 8 个品种构成品种群 I ,即 4 号、9 号、12 号、16 号、20 号、23 号、28 号和 46 号品种,属于抗营养因子水平偏低的品种群体,均为湖北武汉当地和辽宁辽阳收集的蔓生菜豆品种,以早中熟的白荚品种居多;品种群 II ,聚集了抗营养因子中等水平的 44 个品种,占参试品种的 78.57%,该品种群多种熟性和两种生长习性的品种都有,聚集了供试材料中所有的 7 个紫色荚品种;品种群III 由 4 个品种构成,即 38 号、40 号、41 号和 44 号品种,均是来自美国的中熟矮生浅绿荚菜豆品种,属于抗营养因子水平偏高的品种群体。



品种编号与表 1 中编号一致。

Fig. 2 Cluster analysis of 56 cultivars of kidney bean based on anti-nutritional factors level

The code of accessions is the same to that listed in Table 1.

# 3 讨论

中国是普通菜豆次级遗传多样性中心,已入库的菜豆资源有4900多份(王坤等,2009),研究

人员主要鉴定评价了农艺性状、丰产性、熟性、抗性和一般营养成分等,育种目标也主要集中于此类性状的改良,而有关菜豆中多种特殊化学成分的鉴定评价和低毒、无毒品种的选育研究报道甚少。开展类似于'双低'油菜、低植酸玉米(马磊等,2011)等特殊化学成分的菜豆品质育种,种质自身去毒,将有利于根除菜豆食用的安全隐患。达成目标的基础性工作就是评价菜豆种质资源的抗营养因子水平的遗传变异,为此,既有必要建立其检测技术,使之准确、稳定、操作简便,并能在短时间内检测大量样本,又有必要明确影响菜豆抗营养因子水平的内外因素。

本研究中选取了56份较具代表性的食荚菜豆品种,测定目前比较公认的4种抗营养因子水平(姚云艳等,2006),即植物凝集素、皂苷(旧称皂甙)、胰蛋白酶抑制剂和植酸。通过试验摸索后,认为高灵敏度的酶标仪法可以快速测定多个菜豆样品中的植物凝集素含量,减少误差。与常规的血凝法相比,可以克服不能定量(娄在祥和王洪新,2008)的问题,也更直观有效(孙册等,1986;李笑梅和张娜,2009)。采用酶标仪三波长法进行皂苷含量测定,短时间内能完成多个样本的测定,且避免了分光光度计法测定时香草醛—冰乙酸显色体系不稳定这一问题(俞阗,2006)。在国标GB/T21498-2008《大豆制品中胰蛋白酶抑制剂活性的测定 1.0》的基础上,测定菜豆胰蛋白酶抑制剂活性,对样本溶液的制备中依据胰蛋白酶抑制剂分子量为7975~21500 Da,增加了孔径为3和50kD超滤管过滤过程,可有效去除其他大分子物质,降低干扰,使结果更为精准。此外,参照国标GB/T5009.153-2003植物性食品中植酸的测定方法检测菜豆植酸含量时,对震荡提取时间及提取液进行了优化。

影响植物抗营养因子水平的因素很多,李笑梅和张娜(2009)的研究表明,9 月收获的菜豆的血凝程度高于6 月收获的菜豆。Angela 和 Domenico(2003)的研究表明,菜豆胰蛋白酶抑制剂含量与种子内蛋白质含量、栽培年份以及基因型密切相关。俞阗(2006)、王宝枝等(2009)、Chang和 Park(1980)等报道,大豆、马铃薯和人参次生代谢产物含量受栽培条件影响,此外,Lott等(2000)认为植物果实和种子内植酸含量与土壤中磷的水平相关。本实验室通过 2012—2014 年间试验和测定也表明,同一品种不同年份、不同季节栽培时,成熟期豆荚中的4种次生代谢产物数值有所不同,但是品种间相对水平的变化趋势基本一致。从植物内部因素看,不同部位和发育阶段抗营养因子水平变化大。植物凝集素主要存在于种子中,豆科植物中除种子之外,叶、茎、果实和根中也分布着一些与种子植物凝集素高度同源的植物凝集素(Herman et al., 1988)。大量论文表明,芍药(简在友等,2010)、桔梗(杜丽鹏,2008)、紫花苜蓿(甘智才等,2010)等植物中胰蛋白酶抑制剂和皂苷等存在发育时期差异和器官特异分布。本实验室曾经对菜豆叶片和豆荚中植物凝集素、植酸等含量水平分别进行了测定,也观测到器官特异性,两器官抗营养因子水平不存在显著相关,故检测叶片的水平难以预测豆荚的水平。

低抗营养因子水平的种质创新是蔬菜育种家追求的目标,高水平毒性蛋白等资源或可用于植物源生物杀虫剂等的研制(Carlini & Grossi-de-Sá, 2002)。李佳楠等(2015)通过不同抗营养因子水平的菜豆品种浸提液对小鼠淋巴细胞生长影响和小鼠试验,建立了菜豆毒性预测模型,表明植物凝集素是菜豆致毒的主要因素,胰蛋白酶抑制剂和皂苷等起次要作用。从本研究看,4种抗营养因子水平在 56份种质间表现出遗传多样性,有低水平和高水平的极端种质存在。根据田间观察,从美国引进的 40号和 38号等矮生菜豆品种的确具有良好的田间抗病虫性表现,故较高的抗营养因子水平与植物抗病虫性可能相关。菜豆的植物凝集素水平与胰蛋白酶抑制剂水平呈显著正相关,因此筛选和选育出既降低植物凝集素水平,又能维持较高田间抗病虫性的品种尚需深入研究。目前在进一步确定低毒菜豆材料,作为选育低毒菜豆新品种的资源;而对于植物凝集素水平高的种质,可通过现

代生物技术手段开发出植物源生物杀虫剂,以趋利避害地合理利用各种菜豆资源。

#### References

- Angela R Piergiovann, Domenico Pignone.2003. Effect of year-to-year variation and genotype on trypsin inhibitor level in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. Journal of the Science of Food and Agriculture, 83 (5): 473 476.
- Carlini C R, Grossi-de-Sá M F. 2002. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides. Toxicon, 40 (11): 1515 1539.
- Chang Y S, Park C I, Noh H I. 1980. The effect of *Panax ginseng* on the postoperative radiation complication in cervical cancer patients. Seoul: Korea Ginseng Research Institute Press: 197 205.
- Du Li-peng. 2008. Study of quality on different stage of *Platycodom grandiflorum*. Heilongjiang Medicine Journal, 21 (4): 42 43. (in Chinese) 杜丽鹏. 2008. 不同时期桔梗的质量研究. 黑龙江医药, 21 (4): 42 43.
- Gan Zhi-cai, Liu Yong, Chen Dong-ying, Yu Yong-xiong. 2010. Study on genetic variation of the content of total saponin of Alfalfa// Collected papers of the third China alfalfa development conference. Beijing: China Animal Agriculture Association: 75 79. (in Chinese)
  - 甘智才,刘 勇,陈东颖,玉永雄.2010. 紫花苜蓿总皂甙含量的遗传变异研究//第三届中国苜蓿发展大会论文集. 北京:中国畜牧业协会: 75-79.
- Herman E M, Hankins C N, Shannon L M. 1988. Bark and leaf lectins of *Sophora japonica* are sequestered in protein-storage vacuoles. Plant Physiology, 86 (4): 1027 1031.
- Jian Zai-you, Yu Jing-bo, Wang Wen-quan. 2010. RP-HPLC determination of main chemical components in different parts and different harvest periods of *Paeonia lactiflora*. Acta Pharmaceutica Sinica, 45 (4): 489 493. (in Chinese)
  - 简在友,俞敬波,王文全.2010. 芍药不同部位和不同采收期6个化学活性成分含量的比较. 药学学报,45(4):489-493.
- Li Jia-nan, Yang Wei, Peng Na, Chen Chan-you. 2015. Toxicity analysis of kidney bean and construction of its prediction model. Scientia Agricultura Sinica, 48 (4): 727 734. (in Chinese)
  - 李佳楠,杨 薇,彭 娜,陈禅友. 2015. 菜豆毒性分析及毒性预测模型建立. 中国农业科学,48(4):727-734.
- Li Ming, Huang Yong, Liang Ge-qing, Pan Jun-fu. 1998. Investigation of kidney bean ood poisoning. Chinese Journal of Public Health, 5 (5): 203. (in Chinese)
  - 李 明,黄 涌,梁戈清,潘俊富. 1998. 一起四季豆食物中毒的调查研究. 中国卫生监督杂志, 5 (5): 203.
- Li Xiao-mei, Zhang Na. 2009. Study on the relationship and stability between the hemolytic activity and varieties of *Phaseolus vulgaris* saponin. Science and Technology of Food Industry, 12 (9): 169 171. (in Chinese)
  - 李笑梅,张 娜. 2009. 菜豆皂苷溶血活性与品种的关系及稳定性的研究. 食品工业科技, 12 (9): 169-171.
- Lou Zai-xiang, Wang Hong-xin. 2008. Comparisons of content of total saponin and activity of lectin in seven kinds of fresh pods. Food Science, 29 (3): 123 126. (in Chinese)
  - 娄在祥,王洪新. 2008. 七种新鲜豆荚中总皂甙含量及凝集素活性的比较研究. 食品科学, 29(3): 123-126.
- Ma Lei, Li Pan, Chen Zhe, Zhao Yong-feng, Zhu Li-ying, Huang Ya-qun, Chen Jing-tang. 2011. Genetic analysis and identification of maize (*Zea mays* L.) low phytic acid inbred lines. Scientia Agricultura Sinica, 44 (3): 447 455. (in Chinese)
  - 马 磊,李 盼,陈 哲,赵永锋,祝丽英,黄亚群,陈景堂. 2011. 低植酸玉米自交系的筛选及其遗传分析. 中国农业科学,44(3):447-455.
- O'Deli B L, Savage J E. 1960. Effect of phytic acid on zinc availability. Experimental Biology and Medicine, 103 (2): 304 306.
- Pitt M W, Lott J N A. 1996. Large globoid particles in the cotyledons of Cucurbita maxima seedlings. Canadian Journal of Botany, 74 (7): 1186 1189.
- Sun Ce, Zhu Zheng, Mo Han-qing. 1986. Lectin. Beijing: Science Press. (in Chinese)
  - 孙 册,朱 政,莫汉庆.1986. 凝集素. 北京: 科学出版社.
- Vasconcelos I M, Oliveira J T A. 2004. Anti-nutritional properties of plant lectins. Toxicon, 44 (4): 385 403.
- Wang Bao-zhi. 2009. Comparison of lectin content and activity of potatoes in different regions. Hubei Agricultural Sciences, (4): 65. (in Chinese) 王宝枝. 2009. 不同地区马铃薯凝集素含量与活性的测定分析. 湖北农业科学, (4): 65.

- Wang Kun, Wang Xiao-ming, Zhu Zhen-dong, Zhao Xiao-yan, Zhang Xiao-yan, Wang Shu-min. 2009. Mapping of a novel *Anthracnose* resistance gene using SSR markers in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Acta Agronomica Sinica, 35 (3): 432 437.(in Chinese)
  - 王 坤,王晓鸣,朱振东,赵晓彦,张晓艳,王述民. 2009. 以 SSR 标记对普通菜豆抗炭疽病基因定位. 作物学报,35 (3):432-437.
- Weder J K P, Telek L, Vozari-Hampe M, Saini H S. 1997. Antinutritional factors in anasazi and other pinto beans (*Phaseolus vulgaris* L.) . Plant Foods for Human Nutrition, 51 (2): 85 98.
- Yao Yun-yan, Wang Jing, Cao Wei-qiang. 2006. Progress on study of toxic substances in common bean. Food Science and Technology, (8): 280 283. (in Chinese)
  - 姚云艳, 王 静, 曹维强. 2006. 豆角中毒素中毒机理的研究. 食品科技, (8): 280-283.
- Yu Dian. 2006. Effects of varieties, sowing time and year in soybean isoflavone and saponin content in soybean [M. D. Dissertation]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University. (in Chinese)
  - 俞 阗. 2006. 品种、播期和年份对大豆异黄酮及皂甙含量的影响[硕士论文]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学.
- Zhang Xin, Wang Zi-jun, Ran Lu. 2010. Analysis on nationwide food poisoning events reported through public emergency network direct reporting system in China, 2008. Disease Surveillance, 25 (5): 406 409. (in Chinese)
  - 张 昕, 王子军, 冉 陆. 2010. 2008 年全国突发公共卫生事件网络报告食物中毒事件分析. 疾病监测, 25 (5): 406-409.

### 征订

# 欢迎订阅《园艺学报》

《园艺学报》是中国园艺学会和中国农业科学院蔬菜花卉研究所主办的学术期刊,创刊于1962年,刊载有关果树、蔬菜、观赏植物、茶及药用植物等方面的学术论文、研究报告、专题文献综述、问题与讨论、新技术新品种以及园艺研究动态与信息等,适合园艺科研人员、大专院校师生及农业技术推广部门专业技术人员阅读参考。

《园艺学报》是中文核心期刊,中国科技核心期刊;被英国《CAB文摘数据库》、美国 CA 化学文摘、日本 CBST 科学技术文献速报、俄罗斯 AJ 文摘杂志、CSCD 中国科学引文数据库等多家数据库收录。《园艺学报》荣获"第三届国家期刊奖"及"新中国 60 年有影响力的期刊"、"中国国际影响力优秀学术期刊"、"百种中国杰出学术期刊"、"中国权威学术期刊"、"中国精品科技期刊"等称号。

《中国学术期刊影响因子年报》2014年公布的《园艺学报》复合总被引频次为9720,复合影响因子为1.417;期刊总被引频次为4424,期刊影响因子为0.940。

《中国科技期刊引证报告》2014年公布的《园艺学报》扩展总被引频次为5959,扩展影响因子为1.153;核心总被引频次为4282,核心影响因子为0.949;在中国科技核心期刊综合评价总分排名中居第14位。

《园艺学报》为月刊,每月25日出版。每期定价40元,全年480元。国内外公开发行,全国各地邮局办理订阅,国内邮发代号82-471,国外发行由中国国际图书贸易总公司承办,代号M448。漏订者可直接寄款至编辑部订购。编辑部地址:北京市海淀区中关村南大街12号中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部。

邮政编码: 100081; 电话: (010) 82109523。E-mail: yuanyixuebao@126.com。网址: http://www.ahs.ac.cn。